621 Bc

Dal BOLLETTINO DELLA SOCIETÀ DI BIOLOGIA SPERIMENTALE
Vol. I. fas. I-II, 1926.
SEZIONE DI TORINO. Seduta del 16 dicembre 1925.

SULLA MIGRAZIONE DI NEUROBLASTI COLTIVATI «IN VITRO».

Del Dott. O. OLIVO.
(Dall' Istituto di Anatomia della R. Università di Torino, diretto dal Prof. Levi).

HARRISON fu il primo a notare nelle colture di tessuto nervoso di rana la presenza di neuroblasti isolati nel coagulo ed ad attribuirla ad un movimento attivo dei neuroblasti stessi. In seguito pure INGEBRITSEN notò per il pollo neuroblasti isolati, ma non precisò le modalità dei loro spostamenti. Più recentemente LEVI ritornando sull'argomento ammise che lo spostarsi dei neuroblasti possa essere favorito da movimenti attivi del protoplasma, ritenne però che la causa principale sia sempre la trazione esercitata sugli elementi periferici del pezzo espiantato da filamenti di fibrina che vi si inseriscono.

Dall'osservazione di numerose colture di tessuto nervoso embrionale di pollo e di cavia potei confermare che in grande maggioranza gli spostamenti dei neuroblasti sono un fatto passivo dovuto a trazione del coagulo, però non infrequentemente potei sorprendere una reale migrazione attiva di neuroblasti che avveniva con modalità diverse nei diversi casi.

A trazione passiva si deve lo scollamento che si osserva frequentissimo se non costante, di una corona di numerosi neuroblasti tutto intorno al pezzo; dopo poche ore dacchè si è allestita una coltura di tessuto nervoso embrionale, il plasma coagulato si retrae dai bordi dell'espianto trascinando seco gli elementi più periferici che vi sono impigliati e stirando inoltre le fibre di tutti quei neuroblasti che avevano cominciato ad avviarle nel coagulo. Man mano che il bordo del coagulo si retrae, gli elementi in esso impigliati si allontanano dall' espianto mantenendo o meno con esso delle connessioni per mezzo di prolungamenti protoplasmatici; le fibre la cui estremità era già addentrata nel coagulo sono costrette ad allungarsi passivamente; se il movimento avviene in modo rapido, esse si assottigliano molto e spesso si spezzano, non infrequentemente però se il neuroblasta

da cui nascono non ha connessioni molto valide nell'espianto, esso viene gradualmente tirato fuori dalla compagine del tessuto.

Una volta però che i neuroblasti comunque trascinati in primo tempo nel coagulo, vi si trovano impigliati, è impossibile immaginare ulteriormente per essi un mezzo passivo di locomozione; eppure spesso si trovano isolati a distanza notevole dall'espianto. Un primo coefficiente alla loro locomozione attiva sta nell'attività ameboide del loro neurite; quando esso è breve ed ha velocità di accrescimento piuttosto intensa, esso viene ad esercitare una vera trazione del corpo cellulare che si vede passare dalla forma sferica o lievemente fusata a quella di pera allungata coll'estremità sottile rivolta verso il neurite; a tale trazione si aggiunge probabilmente anche un flusso di sostanza che scorre in direzione del movimento per cui spesso il tratto iniziale del neurite si fa molto grosso e a volte il corpo del neurite prende forma di biscotto. Questa modalità di spostamento credo possa avvenire anche durante il normale sviluppo, e anzi la tipica figura dei neuroblasti all' inizio della loro differenziazione ne parlerebbe in favore.

Infine una terza modalitá di spostamenti, la quale credo non abbia riscontro nelle figure di neuroblasti viste sulle sezioni di embrioni normali, è dovuta all'emissione di ampie membrane ialine. Di solito i neuroblasti che sono di forma sferica o fusata hanno un citoplasma notevolmente opaco (nella cavia un poco meno che nel pollo) tanto che maschera il nucleo, ed emettono uno o più prolungamenti; spesso accade che in corrispondenza del tratto iniziale del neurite si osserva formarsi espansioni ialine le quali come una corolla avvolgono il neurite e presentano continui movimenti ameboidi, e assomigliano in tutto ai pseudopodi di locomozione delle cellule mesenchimali. In alcuni casi può mancare anche il neurite e le cellule si avvicinano maggiormente ai caratteri di elementi indifferenti; ricorderò ancora che in colture di telencefalo di embrione al quinto giorno di incubazione, ho visto gruppi di neuroblasti migrare compatti a mutuo contatto emettendo all'estremità libera sottili membrane e filamenti ialini presentanti nell'insieme caratteri assai simili a quelli di un epitelio.

In tutti questi ultimi casi mi sono convinto che si tratti di neuroblasti all' inizio della loro differenziazione i quali sono ancora in grado di presentare dei fenomeni di sdifferenziazione, mentre credo che gli altri neuroblasti a cui si deve di solito l'accrescimento tipico e rigoglioso di fibre nelle colture, siano elementi colti in un momento in cui hanno subito oramai delle modificazioni strutturali irreversibili

destinate alla loro differenziazione specifica. Ciò è forse pure uno dei fattori della vitalità così precaria dei neuroblasti coltivati *in vitro*. A proposito di vitalità dei neuroblasti è stato affermato che i neuroblasti isolati soccombono più rapidamente degli altri perchè hanno perso le connessioni coll'espianto. Ritengo che ciò non sia dimostrato; ho spesso osservato neuroblasti completamente isolati con uno o più prolungamenti in attivo accrescimento, i quali sono vissuti quanto le altre fibre delle colture. E' probabile che spesso si alterino facilmente perchè quasi sempre la prima fase migratoria è passiva (trazione della fibrina) e in questa manovra non si possono escludere lesioni più o meno gravi dell'elemento.

Da questa osservazione risulta che i neuroblasti di pollo fra il 5° e il 20° giorno d'incubazione ed embrioni di cavia di 20-25 mm di lunghezza se coltivati *in vitro*, in plasma omogeneo, si possono isolare dall'espianto e spostare nel coagulo oltre che passivamente per trazione di fili di fibrina, anche attivamente per trazione esercitata dal loro neurite in via di rapido accrescimento, o per flusso di sostanza del corpo cellulare lungo il neurite stesso o infine per emissione di membrane e pseudopodi di locomozione.